

Folha de protocolo do QIAAsymphony SP

Protocolo DNA_Blood_400_V6_DSP

Informações gerais

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de ADN total genómico e mitocondrial de sangue total humano, recém-colhido ou congelado, utilizando o QIAAsymphony® SP e o QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit (cat. n.º 937255)
Material para amostra	Sangue total humano (coagulado com EDTA, citrato ou heparina)
Nome do protocolo	DNA_Blood_400_V6_DSP
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	ACS_Blood_400_V6_DSP
Editável	Volume de eluição: 100 µl, 200 µl, 400 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0

Setembro 2012



Sample & Assay Technologies

Bandeja “Sample” (amostra)

Tipo de amostra	Sangue total humano (coagulado com EDTA, citrato ou heparina)
Volume da amostra	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostras primários	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostras secundários	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Introdutores	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

Bandeja “Reagents and Consumables” (reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes
Posição B1	n/a
Suporte de pontas 1–17	Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl
Suporte de caixa de unidades 1–4	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras ou mangas de 8 barras

n/a = não aplicável.

Bandeja “Waste” (resíduos)

Suporte de caixa de unidades 1–4	Caixas de unidades vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte do frasco de resíduos líquidos	Frasco de resíduos líquidos vazio

Bandeja "Eluate" (eluato)

**Suporte de eluição
(recomendamos a utilização da ranhura 1, posição de arrefecimento)**

Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Material de plástico necessário

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl^{†‡}	4	4	4	8
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl^{†‡}	110	212	314	424
Cartuchos de preparação de amostras[§]	18	36	54	72
Mangas de 8 barras[¶]	3	6	9	12

* A utilização de menos do que 24 amostras por lote diminui o número de pontas com filtro descartáveis necessárias para o ensaio.

† Estão disponíveis suportes de 32 pontas/pontas com filtro.

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

§ Estão disponíveis 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades.

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8 barras/caixa de unidades.

Nota: O número de pontas com filtros fornecidas pode diferir dos números visualizados no ecrã táctil, dependendo das definições. Recomendamos o carregamento do número máximo possível de pontas.

Volume de eluição

O volume de eluição é seleccionado no ecrã táctil. Dependendo do tipo de amostra e conteúdo de ADN, o volume de eluição final poderá variar até 15 µl menos do que o volume seleccionado.

Devido a esta possível variação, o volume de eluição real deve ser verificado quando é utilizado um sistema de configuração do ensaio automatizado que não verifica o volume de eluição previamente à transferência. A eluição em volumes menores aumenta a concentração de ADN final, embora reduza o rendimento. Recomendamos a utilização de um volume de eluição adequado para a aplicação downstream pretendida.

Preparação do material de amostra

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (MSDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Ponto importante antes de iniciar

- As partículas magnéticas do QIAAsymphony podem copurificar o ARN, caso esteja presente na amostra. Para minimizar o conteúdo de ARN na amostra, adicionar RNase A à mesma antes de iniciar o procedimento. A concentração final de RNase A deverá ser de 2 mg/ml.

Sangue total humano

Podem ser utilizadas amostras de sangue tratadas com EDTA, citrato ou heparina, podendo ser recém-colhidas ou congeladas. Se as amostras de sangue recém-colhidas forem utilizadas em tubos primários, misturar bem as amostras de sangue (por exemplo, invertendo os tubos várias vezes) antes de os colocar no QIAAsymphony SP. As amostras congeladas podem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação moderada para assegurar uma mistura adequada e depois equilibradas até à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento. Para assegurar uma transferência de amostra fiável, evitar a formação de espuma nos tubos de amostra. Tentar evitar coágulos de sangue nas amostras e, se necessário, transferir a amostra sem coágulos para um tubo limpo.

O rendimento e a qualidade do ADN purificado dependem das condições de armazenamento do sangue. As amostras de sangue mais recentes podem apresentar melhores resultados. Para o armazenamento a curto prazo durante até 10 dias, colher sangue em tubos contendo EDTA como anticoagulante e armazená-los entre 2 e 8 °C. No entanto, para aplicações que requeiram um tamanho de fragmento máximo, como “southern blotting”, recomendamos o armazenamento entre 2 e 8 °C, no máximo, até 3 dias, uma vez que ocorrerão níveis baixos de degradação do ADN depois de decorrido este tempo. Para o armazenamento a longo prazo (mais de 10 dias), colher sangue em tubos que contenham um anticoagulante padrão (de preferência EDTA, caso seja necessário ADN de elevado peso molecular) e armazená-los a -20 °C ou -70 °C.

Para informações actualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respectivo manual do kit QIAGEN ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas registadas: QIAGEN®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por Lei.

© 2012 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies